

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

06.12.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年12月 5日
Date of Application:

出願番号 特願2003-407067
Application Number:

[ST. 10/C] : [JP2003-407067]

出願人 財団法人雜賀技術研究所
Applicant(s):



2005年 1月 20日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川

洋

BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願
【整理番号】 P031205R1
【あて先】 特許庁長官
【国際特許分類】 G01N 21/00
G01N 30/00

【発明者】
【住所又は居所】 和歌山県和歌山市黒田75番地の2 財団法人雜賀技術研究所内
【氏名】 佐々野 僉一

【発明者】
【住所又は居所】 和歌山県和歌山市黒田75番地の2 財団法人雜賀技術研究所内
【氏名】 中西 豊

【特許出願人】
【識別番号】 000173706
【氏名又は名称】 財団法人雜賀技術研究所

【代理人】
【識別番号】 100074561
【弁理士】
【氏名又は名称】 柳野 隆生
【電話番号】 06-6394-4831

【選任した代理人】
【識別番号】 100124925
【弁理士】
【氏名又は名称】 森岡 則夫
【電話番号】 06-6394-4831

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 013240
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1

【書類名】特許請求の範囲**【請求項 1】**

有機化学物質の分析において、分析対象試料より予め有機化学物質を抽出及び調製した分析用試料を液体クロマトグラフィにより分画した後、分画した目的物質を含む移動相液に異なる移動相液を加え、連続的に目的物質を液体クロマトグラフより固相カートリッジに吸着させ、該固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出液により、直接、ガスクロマトグラフの注入口へ溶出し、ガスクロマトグラフィにより分析することを特徴とする有機化学物質の分析方法。

【請求項 2】

前記有機化学物質が1種乃至20種であることを特徴とする請求項1に記載の有機化学物質の分析方法。

【請求項 3】

分析対象試料に含まれている有機化学物質を抽出した分析用試料を導入して分画するための液体クロマトグラフと、この液体クロマトグラフにて分画した目的物質を含む移動相液に該目的物質の溶出時間に基づいて該移動相液とは異なる第1の移動相液を自動供給するための第1供給手段と、前記第1の移動相液と液体クロマトグラフにより分画した移動相液との混合液にて移動してきた目的物質を吸着させるための固相カートリッジと、この固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出させるための溶出液を自動供給するための第2供給手段と、前記溶出された目的物質をガスクロマトグラフに導入するために前記固相カートリッジの流出口に連通接続されたシリンジ針とから構成したことを特徴とする有機化学物質の分析装置。

【請求項 4】

前記第1の移動相液にて移動してきた目的物質を前記固相カートリッジにて吸着させるための第1経路に対して、前記固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出して前記ガスクロマトグラフに導入する第2経路を別に設け、前記固相カートリッジを2つの経路のそれぞれに取り付け及び取り外し自在に設け、前記目的物質を吸着させた固相カートリッジを前記第1経路から取り外して前記第2経路に該固相カートリッジを取り付けて固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出させるように構成してなる請求項3に記載の有機化学物質の分析装置。

【請求項 5】

前記第1の移動相液にて移動してきた目的物質を前記固相カートリッジに供給して該固相カートリッジに吸着させるための第1供給状態と、前記固相カートリッジに前記溶出液を供給して該固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出して前記ガスクロマトグラフに導入する第2供給状態とに供給状態を切り替えるための切替バルブを設けてなる請求項3に記載の有機化学物質の分析装置。

【請求項 6】

前記ガスクロマトグラフが、前記シリンジ針から導入される目的物質を一旦、貯留させることができる捕集剤を含まない貯留室を、気化室内に設けたものとなる請求項3～5のいずれか1項に記載の有機化学物質の分析装置。

【書類名】明細書

【発明の名称】有機化学物質の分析方法及び分析装置

【技術分野】

【0001】

本発明は、有機化学物質の分析において、分析対象試料を予め前処理することによって有機化学物質を抽出及び調製した分析用試料を液体クロマトグラフィにより分画した後、ガスクロマトグラフィにより定量分析する有機化学物質の分析方法及び分析装置に関する。

【背景技術】

【0002】

有機化学物質、特に農薬の分析については、液体クロマトグラフィによる分析法が採用されてきた（例えば、特許文献1参照。）。また、ゴルフ場において使用される農薬の分析についても液体クロマトグラフィが応用されてきた（例えば、特許文献2参照。）。その後、農作物に付着している残留農薬の安全性が問題となり、液体クロマトグラフィのみではなく、ガスクロマトグラフィも利用されるようになってきた。さらには、ガスクロマトグラフィと赤外吸収スペクトルを併用する方法あるいはガスクロマトグラフィの前処理としてマイクロトラップを使用する方法も提案された（例えば、特許文献3および特許文献4参照。）。一方、環境問題がクローズアップされるにつれて、ダイオキシンなどの分析方法も検討されてきた（例えば、特許文献5参照。）。

【0003】

【特許文献1】特開平6-331618号公報

【特許文献2】特開平5-306998号公報

【特許文献3】特開平8-170941号公報

【特許文献4】特開2002-328121号公報

【特許文献5】特開2002-48688号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明は、有機化学物質を分析するに際して、その精度を上げるために液体クロマトグラフィ及びガスクロマトグラフィの組み合わせが考えられたが、液体クロマトグラフィからの移動相液には水分が含まれているため、該移動相液をガスクロマトグラフに注入することができなかった。従って、液体クロマトグラフィ及びガスクロマトグラフィの組み合わせを如何にして実現し、有機化学物質を容易にしかも精密に分析することを目的として、その分析方法及び分析装置を開発することが課題であった。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明者は、上記課題を解決するために銳意検討を行った結果、本発明を提案するに至った。すなわち、有機化学物質の分析において、分析対象試料より予め有機化学物質を抽出及び調製した分析用試料を液体クロマトグラフィにより分画した後、分画した目的物質を含む移動相液に異なる移動相液を加え、連続的に目的物質を液体クロマトグラフより固相カートリッジに吸着させ、該固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出液により、直接、ガスクロマトグラフの注入口へ溶出し、ガスクロマトグラフィにより分析することを特徴とする有機化学物質の分析方法であって、有機化学物質が1種乃至20種であることが好ましい。

【0006】

本発明の第二は、分析対象試料に含まれている有機化学物質を抽出した分析用試料を導入して分画するための液体クロマトグラフと、この液体クロマトグラフにて分画した目的物質を含む移動相液に該目的物質の溶出時間に基づいて該移動相液とは異なる第1の移動相液を自動供給するための第1供給手段と、前記第1の移動相液と液体クロマトグラフにより分画した移動相液との混合液にて移動してきた目的物質を吸着させるための固相カ-

トリッジと、この固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出させるための溶出液を自動供給するための第2供給手段と、前記溶出された目的物質をガスクロマトグラフに導入するために前記固相カートリッジの流出口に連通接続されたシリンジ針とから構成したことを特徴とする有機化学物質の分析装置である。

【0007】

前記第1の移動相液にて移動してきた目的物質を前記固相カートリッジにて吸着させるための第1経路に対して、前記固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出して前記ガスクロマトグラフに導入する第2経路を別に設け、前記固相カートリッジを2つの経路のそれぞれに取り付け及び取り外し自在に設け、前記目的物質を吸着させた固相カートリッジを前記第1経路から取り外して前記第2経路に該固相カートリッジを取り付けて固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出させるように構成してもよい。

【0008】

前記第1の移動相液にて移動してきた目的物質を前記固相カートリッジに供給して該固相カートリッジに吸着させるための第1供給状態と、前記固相カートリッジに前記溶出液を供給して該固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出して前記ガスクロマトグラフに導入する第2供給状態とに供給状態を切り替えるための切替バルブを設けて実施することもできる。

【0009】

前記ガスクロマトグラフが、前記シリンジ針から導入される目的物質を一旦、貯留させることができる捕集剤を含まない貯留室を、気化室内に設けたものを用いてもよい。捕集剤としては、活性炭やグラファイトカーボンなどを例示することができる。

【発明の効果】

【0010】

本発明の分析方法は、夾雑物を含む有機化学物質を精度よく分析することに優れしており、特に有機化学物質が1種乃至20種のときに、その効果を最も發揮し、目的成分を分析することができる。

【0011】

また、固相カートリッジにて目的物質を吸着させることによって、従来のオンライン液体クロマトグラフィ（LC）－ガスクロマトグラフィ（GC）で問題となっていたLCからの分取液に含まれている水を除去することができ、多種類の有機化学物質を精度よく分析することができる。

【0012】

また、固相カートリッジの流出口にシリンジ針が連通接続されていることから、固相カートリッジからの目的物質を無駄なく簡単にガスクロマトグラフィへ導入することができる。また、ガスクロマトグラフとして、シリンジ針から導入される目的物質を一旦、貯留させることができると貯留室を、気化室内に設けたものを用いることによって、固相カートリッジからの全溶出量をガスクロマトグラフに導入することができる。さらに、液体クロマトグラフィ（LC）－ガスクロマトグラフィ（GC）からなる分析方法の液体クロマトグラフィ（LC）は、クリーンアップ機能として作用するため、クリーンアップを行う前処理を省いた分析が可能となる。

【0013】

前記固相カートリッジへ第1の移動相液（目的物質を含む）を供給する第1供給状態と第2の溶出液を供給する第2供給状態とに切り替えるための切替バルブを設けることによって、固相カートリッジを第1経路から取り外して第2経路に取り付ける作業が不要になり、分析作業をより一層迅速に行うことができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

本発明にいう有機化学物質とは、残留農薬、環境ホルモン、香料などを含む有機化学物質であって、特に限定されるものではない。残留農薬としては、アシュラム、オキシン銅、メコプロップ、チウラム、シデュロン、イプロジオン、クロロタロニル、ベンシクリン

、ベンスリド、クロルピリフオス、エトプロホスなどを例示することができる。また、環境ホルモンとしては、ノニルフェノール、ビスフェノールAなどのフェノール類、フタル酸エステル、P C Bやダイオキシン類など、トリブチル錫、トリフェニル錫などの有機錫化合物、エチルエストラジオール、エストリオールなどの合成エストロゲンなど、香料としては、リモネン、ジペンテン、テルピノーレン、アロオシメン、オシメン、リナロール、ゲラニオール、ネロール、シトロネロール、ムゴールなどを例示することができる。

【0015】

本発明にいう分析対象試料は、特に限定されるものではないが、植物性及び動物性の食品の成分として含まれている有機化学物質及び食品の表面に付着している有機化学物質などの分析すべき対象の試料が含まれる。例えば、野菜類の表面に付着している残留農薬あるいは環境ホルモンなどの分析を行うべき野菜類などが分析対象試料として適している。

【0016】

ここで分析対象試料は、分析を行うべき有機化学物質を溶剤により抽出し、その濃度を調整し、液体クロマトグラフィに供する分析用試料を調製する。例えば、野菜、果実類は細切りとし、穀類、豆類は粉碎後、水を加え十分に膨潤させた後、溶剤としてアセトニトリル、アセトン、メタノール、エーテル、酢酸エチル、水などを加え、ホモジナイズした後、ろ別し有機化学物質の抽出を行う。この有機化学物質抽出液を分析用試料という。

【0017】

図1に、液体クロマトグラフ1とガスクロマトグラフ2とがインターフェース3を介して接続されて、分析装置を構成している。

前記液体クロマトグラフ1は、分析用試料をLCカラム側へ導入するための注入口4に移動相液を供給するためのポンプ5と、分析用試料に含まれるLCカラムを劣化させてしまう夾雑物を除去するためのプレカラム6及び夾雑物と目的物質を分離させるためのLCカラム7と、LCカラム7からの溶出液に含まれる目的物質を検出するための検出器8とを備えている。

【0018】

前記インターフェース3は、前記検出器8が所望の目的物質を検出したときに、排出経路9側から第1経路10側へ検出器8からの溶出液（移動相液と目的物質からなる）の排出先を切り替えるバルブ11と、第1経路10側へ導入された前記溶出液に対して該溶出液に含まれる移動相液とは異なる第1の移動相液を前記目的物質の溶出時間、つまり前記バルブ11の切り替え信号に基づいて自動供給するための第1供給手段としての第1ポンプ12と、前記ポンプ12からの第1の移動相液と前記バルブ11からの溶出液とを混ぜ合わせるためのミキサー13と、前記ミキサー13からの流出液のうちの目的物質を吸着させるための固相カートリッジ14とを備えており、前記固相カートリッジ14に吸着されなかった水分などが下方の排出口15から排出されることになる。又、前記固相カートリッジ14に吸着された目的物質を溶出するための溶出液を前記第1経路10とは異なる第2経路16へ自動供給するための第2供給手段としての第2ポンプ17を前記インターフェース3に備えている。

【0019】

そして、前記固相カートリッジ14は、第1経路10に対して着脱自在に構成されると共に、前記第2経路16の終端に着脱自在に構成されている。従って、目的物質が吸着された固相カートリッジ14を第1経路10から取り外して、第2経路16の終端へ取り付けることができるようになっている。目的物質を吸着させた固相カートリッジを前記第1経路から取り外して前記第2経路に該固相カートリッジを取り付けたことがセンサなどの検出器により検出されたときの検出信号に基づいて前記第2ポンプ17を作動させることによって、固相カートリッジ14に吸着された目的物質を溶出させて、ガスクロマトグラフ2へ導入されて分析が行われるように構成している。なお、固相カートリッジの充填剤としては、C18、C8、CN、ジオール、NH₂、アルミナ、フロリジル、シリカなどを例示することができる。

前記固相カートリッジ14の下方の流出口にはシリンジ針18が連通接続されており、

固相カートリッジ14を第2経路16に取り付けることによって、固相カートリッジ14から流出された目的物質がシリンジ針18を介して無駄なく簡単に注入されることができるようになっている。

ガスクロマトグラフ2は、前記シリンジ針18から導入される目的物質を一旦、貯留させることができる貯留室19を、気化室20内に設けたもので構成されている。

【0020】

図2には、前記注入口4から注入された分析用試料が移動相液により時間経過に伴って溶出している状態を示すクロマトグラムを示しており、図2の2箇所において目的物質が流出している時間を示し、その流出していることを前記検出器8にて検出している間中、バルブ11を第1経路10へ流す状態へ切り替えるように制御手段にて制御されるようになっている。

【0021】

図1では、目的物質が吸着された固相カートリッジ14を第1経路10から取り外して第2経路16へ取り付けるようにしているが、図4に示すように、第1経路10と第2経路16とが合流する箇所に、切替バルブ（図ではロータリバルブを示しているが、例えればスライドさせて切り替える他の形式のものであってもよい）22を設け、この切替バルブ22を手動力又は自動的に切り替えることによって、固相カートリッジ14を着脱することなく、固相カートリッジ14に吸着された目的物質をガスクロマトグラフ2へ供給することができるよう構成してもよい。

詳述すれば、前記切替バルブ22の可動側（回転側）のスプール（スプールの外周を覆うケーシングとなるスリーブは省略している）に、前記ミキサー13からの流出液又は第2ポンプ17からの移動相液を取り込んで固相カートリッジ14への供給流路22Dへ流すための第1流路22Aと、この第1流路22Aからの流出液を供給流路22Dを介して前記排出口15側へ供給するための第2流路22Cと、前記供給流路22Dから溶出した目的物質をシリンジ針18（ガスクロマトグラフ2）へ供給するための第3流路22Bの3つを形成し、前記第1の移動相液にて移動してきた目的物質を、第1流路22A、供給流路22Dを介して前記固相カートリッジ14に供給して該固相カートリッジ14に吸着させ、固相カートリッジ14に吸着されなかった水分などを第2流路22Cを介して下方の排出口15へ排出させる第1供給状態（図5（a）参照）と、前記スプール22を手動力又は電動力を用いて図5（a）の矢印の方向へ60度回転させることにより、前記固相カートリッジ14に第1流路22A、供給流路22Dを介して前記第2移動相液を供給して該固相カートリッジ14に吸着された目的物質を溶出して第3流路22Bを介してシリンジ針18（ガスクロマトグラフ2）に導入する第2供給状態（図4及び図5（b）参照）とに供給状態を切り替えることができるようしている。前記切替バルブ22を第2供給状態にした場合には、それと同時にシリンジ針18を下方へ移動させてシリンジ針18をガスクロマトグラフ2内へ挿入した状態にすることになる。尚、図5（b）の第2供給状態からスプール22を図に示す矢印の方向（逆方向）へ60度回転させることにより、前記第1供給状態に戻すようにしている。

【実施例1】

【0022】

ホウレンソウ中の残留農薬の分析を添加回収試験により行った。

（試料の調製）

ホウレンソウ20gを計量し、アセトニトリル100mlを加え、エトプロホスを0.02mg添加した後、ホモジナイズし、これを吸引ろ過したろ液をホウレンソウ抽出液とした。

（分析装置）

液体クロマトグラフ（HPLC）

カラム；ODS2.1×100mm

移動相；70%アセトニトリル水

流速；0.2ml/min

注入量； $5\mu l$

測定波長； $254 nm$

ガスクロマトグラフ（GC/MS）

注入口；大量注入用（胃袋型ライナーを使用）

注入口温度； $60^{\circ}C - 100^{\circ}C/min - 250^{\circ}C (20min)$

カラムオーブン温度； $60^{\circ}C (4min) - 10^{\circ}C/min - 260^{\circ}C (5min)$

インターフェイス

固相カートリッジ；固相C18

加入液；水、 $2ml/min$

溶出液；アセトン、 $50\mu l$

（分析方法）

HPLCにホウレンソウ抽出液 $10\mu l$ を注入し、液体クロマトグラフで分離した。予め、調べておいたエトプロホスの溶出時間にバルブを切り換え、水を加えながら固相カートリッジに通した。このときエトプロホスはこの固相カートリッジに吸着される。この固相カートリッジにシリングを取り付け、溶出液アセトンで直接ガスクロマトグラフ注入口へ溶出させ、GC/MSにより分析した。その結果、エトプロホスは90%以上の回収率と図3に示すように良好なクロマトグラムが得られた。

【産業上の利用可能性】

【0023】

本発明の有機化学物質の分析方法は、1種乃至20種程度の特定の残留農薬および環境ホルモンを速やかに、しかも精密に測定することが可能であり、対象とする食品などの安全性を迅速に評価するのに適している。

【図面の簡単な説明】

【0024】

【図1】分析装置の概略図である。

【図2】検出器にて検出した結果を示すクロマトグラムである。

【図3】添加回収試験の結果を示すクロマトグラムである。

【図4】切替バルブにて固相カートリッジへの供給流路を変更可能にした他の分析装置の概略図である。

【図5】図4で示した分析装置の要部の拡大図を示し、(a)は固相カートリッジに目的物質を吸着させる第1供給状態を示し、(b)は吸着された目的物質を溶出させてクロマトグラフへ供給する第2供給状態を示している。

【符号の説明】

【0025】

1 液体クロマトグラフ

2 ガスクロマトグラフ

3 インターフェース

4 注入口

5 ポンプ

6 プレカラム

7 LCカラム

8 検出器

9 排出経路

10 経路

11 バルブ

12 ポンプ

13 ミキサー

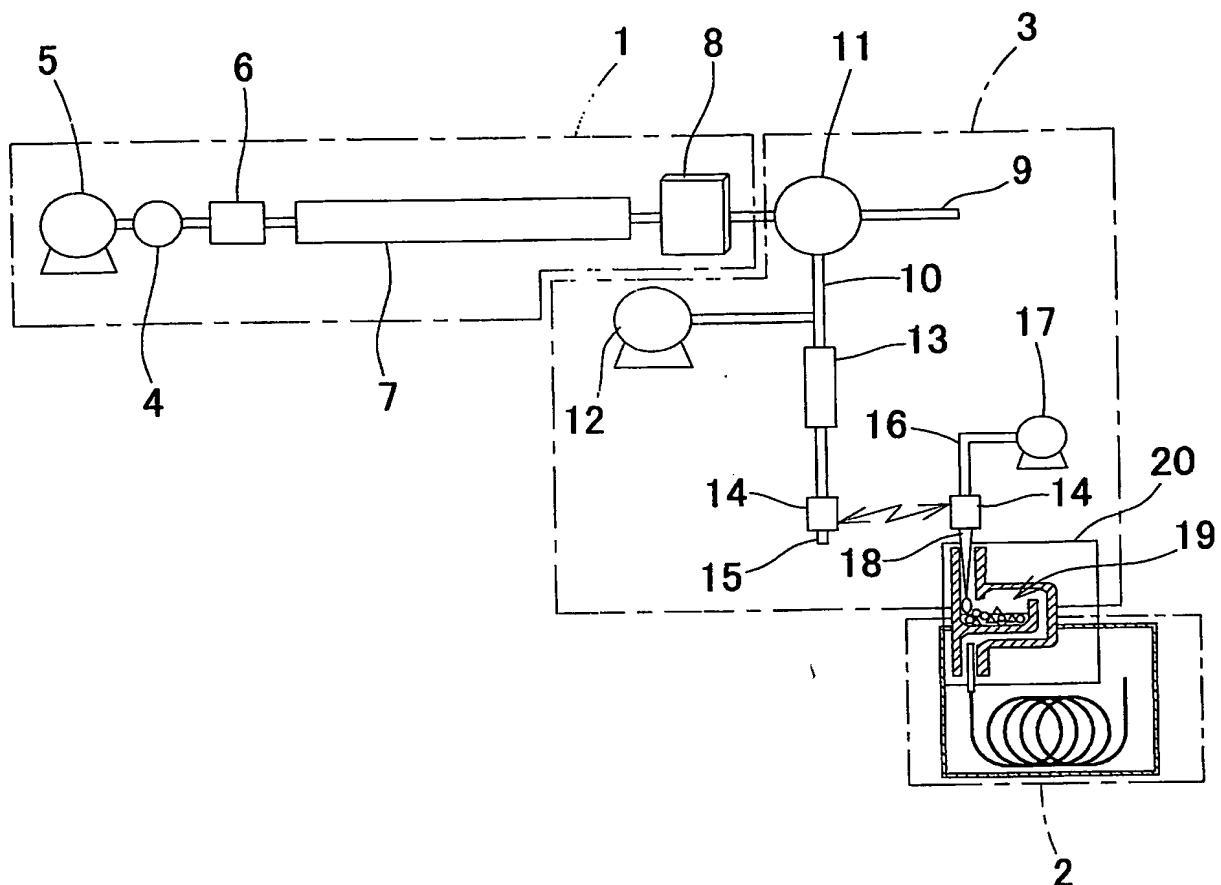
14 固相カートリッジ

15 排出口

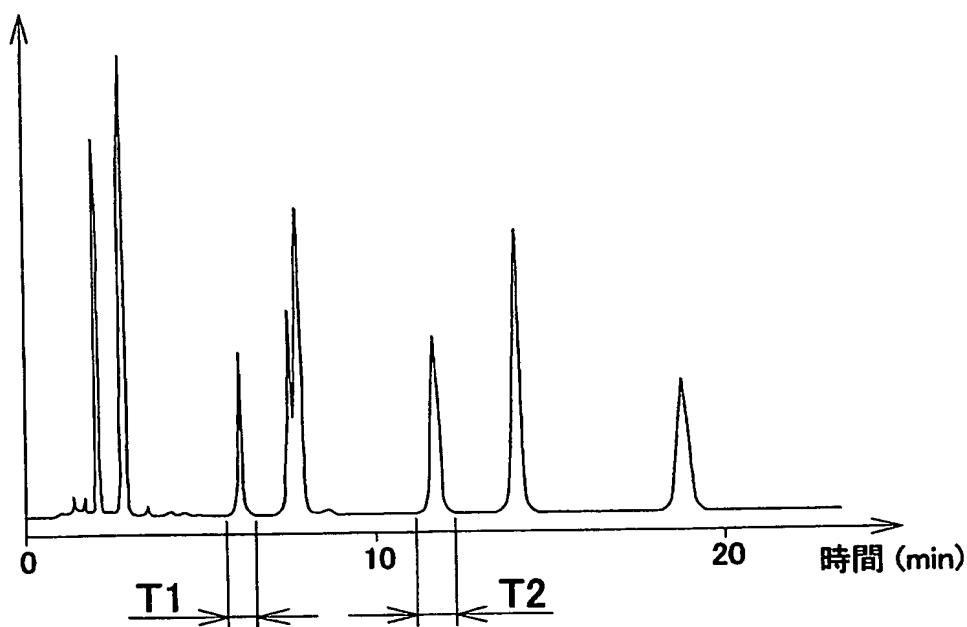
16 経路

- 17 ポンプ
- 18 シリンジ針
- 19 貯留室
- 20 気化室
- 21 エトプロホスのピーク
- 22 切替バルブ
- 22A, 22B, 22C 流路

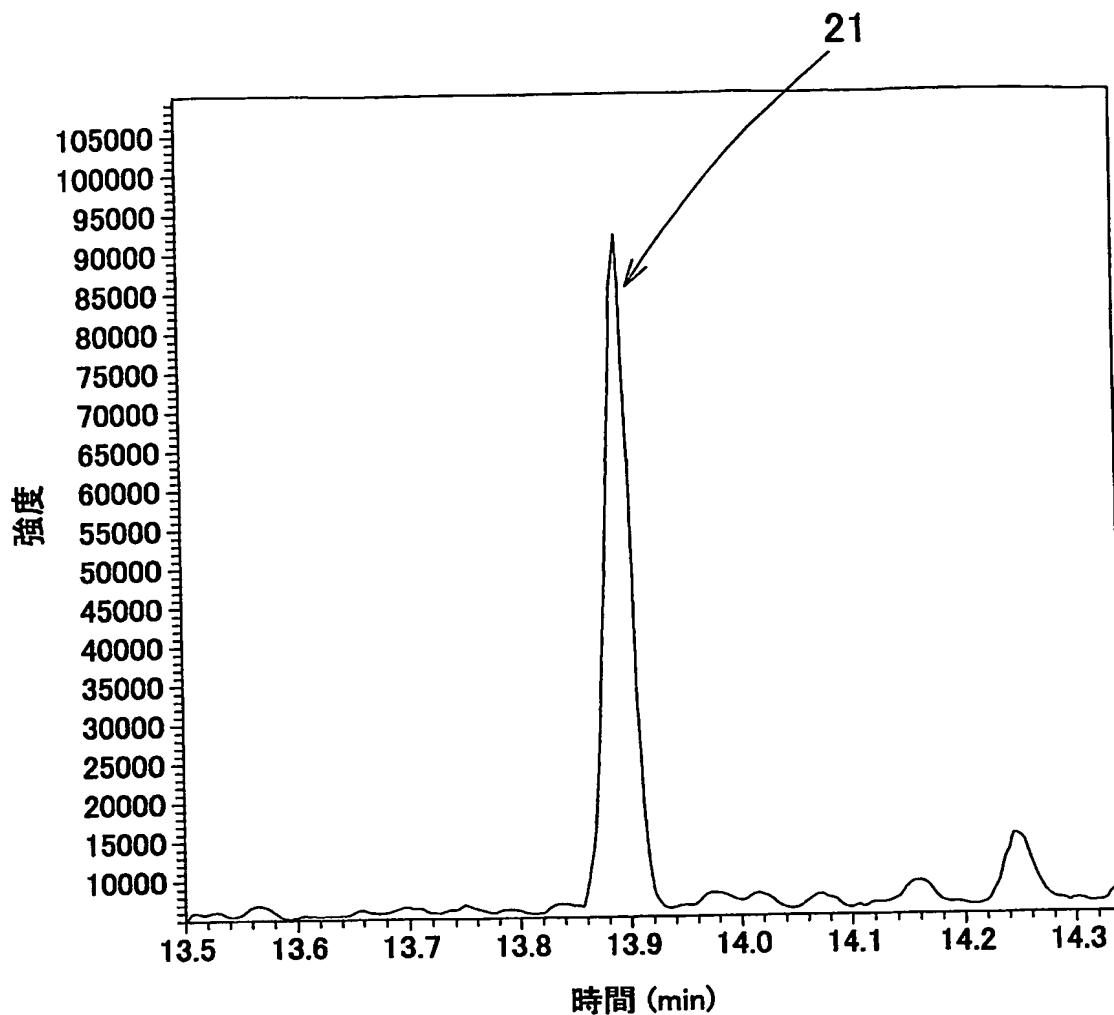
【書類名】 図面
【図1】



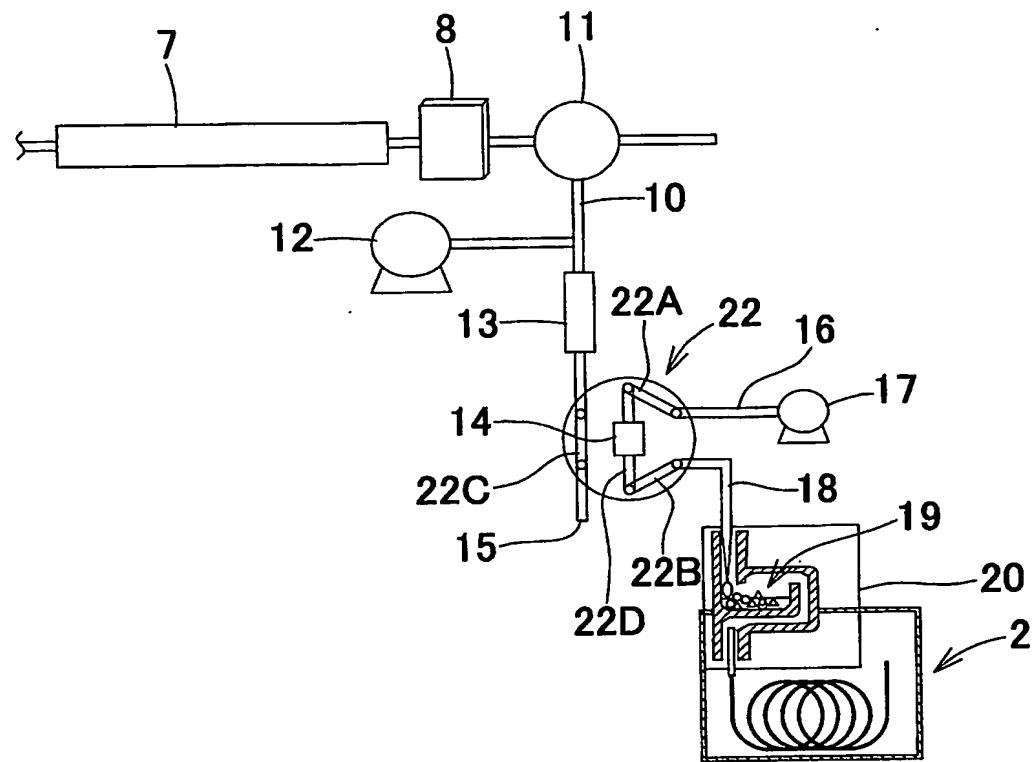
【図2】



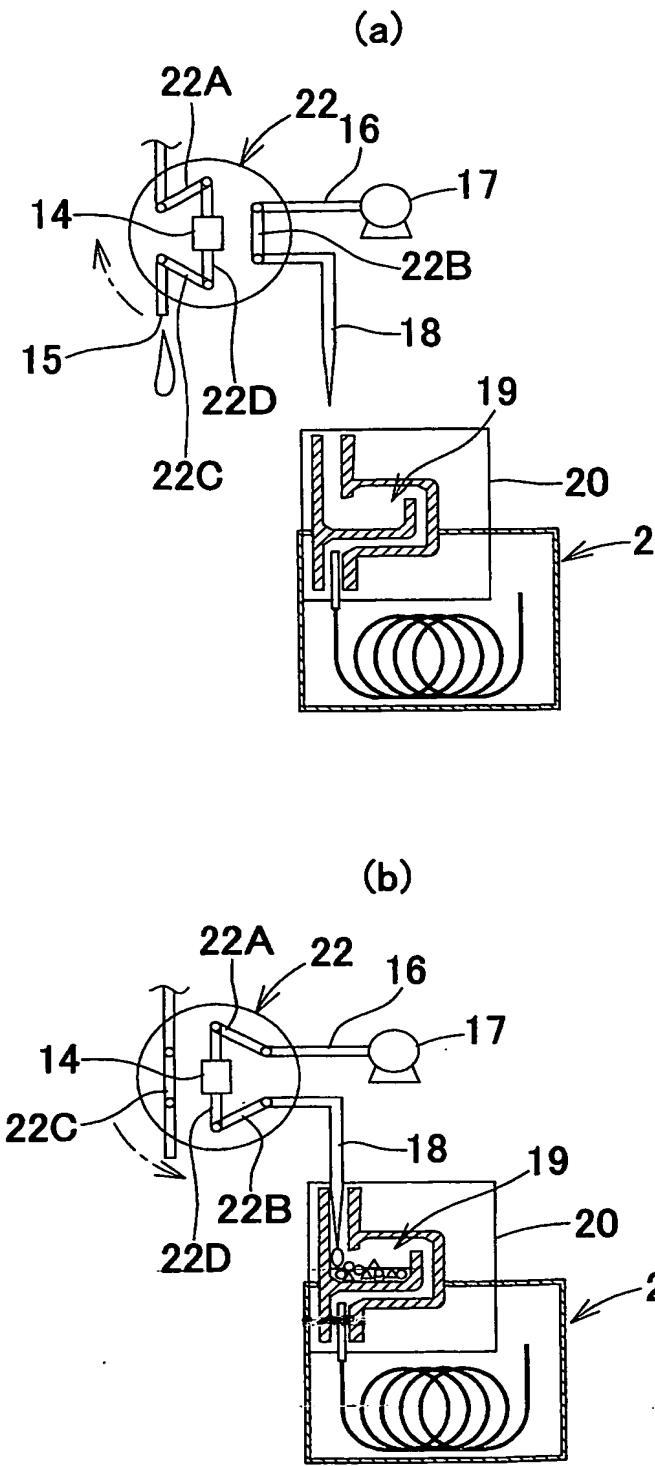
【図3】



【図4】



【図5】



【書類名】要約書

【要約】

【課題】有機化学物質の分析に際し、その精度向上のために液体クロマトグラフィ及びガスクロマトグラフィの組み合わせが課題であった。

【解決手段】分析対象試料より予め有機化学物質を抽出・調製した分析用試料を液体クロマトグラフィにより分画した後、目的物質を含む移動相液に異なる移動相液を加え、目的物質を固相カートリッジに吸着させ、固相カートリッジに吸着された目的物質を溶出液により溶出し、ガスクロマトグラフの注入口に移す定量分析方法並びにその分析装置。

【選択図】図1

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2003-407067
受付番号	50302007624
書類名	特許願
担当官	第一担当上席 0090
作成日	平成15年12月 8日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成15年12月 5日
-------	-------------

特願 2003-407067

出願人履歴情報

識別番号 [000173706]

1. 変更年月日 1990年 8月10日

[変更理由] 新規登録

住所 和歌山県和歌山市黒田75番地の2
氏名 財団法人雜賀技術研究所

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/018014

International filing date: 03 December 2004 (03.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2003-407067
Filing date: 05 December 2003 (05.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 04 February 2005 (04.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record.**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

BLACK BORDERS

IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

FADED TEXT OR DRAWING

BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

SKEWED/SLANTED IMAGES

COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

GRAY SCALE DOCUMENTS

LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.